

WEST**End of Result Set**

Generate Collection

L1: Entry 4 of 4

File: DWPI

Dec 16, 1976

DERWENT-ACC-NO: 1977-11598Y

DERWENT-WEEK: 197707

COPYRIGHT 2001 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Sepn. of polyphenols from vegetable extracts - by
conversion to their betainates and fractional precipitation

PATENT-ASSIGNEE: HELMONA AG (HELMN)

PRIORITY-DATA: 1975CH-0005089 (April 18, 1975)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
FR 2307779 A	December 16, 1976	N/A	000	N/A
CH 602531 A	July 31, 1978	N/A	000	N/A

INT-CL (IPC): C07B 29/00; C07C 37/22; C07C 39/00; C07D 311/40;
C07G 17/00

ABSTRACTED-PUB-NO: FR 2307779A

BASIC-ABSTRACT:

Polyphenols such as monomers and oligomers of catechins, leucocyanadins, or their derivatives are sepd. from polyphenol-rich vegetable extracts by treatment with betaine base in an alcoholic medium and fractional pptn. of the polyphenol betainates.

Cpds. are anti-oxidants for foods, they improve permeability of capillary vessels, are anti-inflammatories, and leucoanthocyanidols and their oligomers and polymers are useful in preventing tumours. Process is simpler and cheaper to carry out than known methods of separation.

Typically a stoichiometric amount of betaine is added, and the polyphenols are precipitated by addition of a 3-5C aliphatic alcohol. In an example maritime pine bark extract (30g) was treated with 15g betaine base and polyphenols pptd. by gradual addition of isopropanol, n-butanol, and ethyl acetate.

ABSTRACTED-PUB-NO: FR 2307779A

EQUIVALENT-ABSTRACTS:

DERWENT-CLASS: B05 D13 E14

CPI-CODES: B04-A07F; B06-A01; B12-D07; B12-G07; B12-H02;

D03-H01P; E06-A01; E10-E02A;

D03-H01P; E06-A01; E10-E02A;

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 76 10651

(54) Procédé de séparation de polyphénols à partir d'extraits végétaux.

(51) Classification internationale (Int. Cl.²). C 07 B 29/00; C 07 C 39/00; C 07 D 311/40.

(22) Date de dépôt 12 avril 1976, à 14 h 44 mn.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : *Demande de brevet déposée en Suisse le 18 avril 1975,
n. 5.089/75 au nom de Madeleine Moczar, née Csanadi.*

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — «Listes» n. 46 du 12-11-1976.

(71) Déposant : Firme dite : HELMONA A.G., résidant en Suisse.

(72) Invention de :

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet André Bouju.

La présente invention se rapporte à la séparation de polyphénols d'origine végétale et plus particulièrement celle des tannins, des catéchines, des leucocyanidines et de leurs dérivés à partir d'extraits végétaux bruts.

- 5 Les polyphénols d'origine végétale possèdent des propriétés qui rendent leur application intéressante dans plusieurs domaines industriels. Du fait de leur grand pouvoir réducteur, ils sont utilisés fréquemment comme antioxydants dans l'industrie alimentaire. Les catéchines et les leucoanthocyanidols possèdent également des
- 10 propriétés intéressant l'industrie pharmaceutique, car ils améliorent la perméabilité des vaisseaux capillaires (Voir MASQUELLIER et TAYEAU, Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux 88, 168, 1950) et présentent
- 15 une activité antiinflammatoire (Voir BONNAMEAUX et LECOMTE, Compt. R. Soc. Biol. 149, 1062, 1955). En outre, les leucoanthocyanidols ainsi que leurs oligo- et polymères peuvent être utilisés en tant que médicaments pour le traitement préventif des tumeurs (Voir
- BUCHALTER et COLE, J. Pharm. Sci., 56, 1033, 1967).

- Les sources végétales des polyphénols précités sont constituées notamment par l'écorce de pin maritime, les grains de Colophyllum,
- 20 le fruit de Sapoto, les fougères, les gymnospermes, les monocotylédons, les grains de cacao et le résidu du traitement des arachides, (Voir NAIRET et Coll., Current Sci., India, 33, 336, 1964 ; BATE-SMITHS, Biochem. J., 58, 122, 1954 ; FORSYTH, Biochem J., 51, 511, 1952 et MASQUELLIER et TAYEAU, Bull. Trav. Soc. Pharm. Bordeaux, 88,
- 25 168, 1950).

Les extraits polyphénoliques de ces végétaux s'obtiennent le plus souvent par extraction à l'acétone, à l'éthanol ou à l'acide chlorhydrique dilué.

- On connaît des procédés de séparation des catéchines et de
- 30 leurs oligomères, des hydroxycatéchines et des anthocyanidines qui consistent par exemple, à soumettre les extraits végétaux à une extraction fractionnée basée sur le principe de la distribution à contre-courant, puis à purifier les fractions recueillies par chromatographie sur une colonne de cellulose en poudre (Voir FORSYTH.,
- 35 Biochem. J. 60, 108, 1955). Une autre méthode de séparation consiste

à recueillir, par exemple, le leucocyanidol dans la phase aqueuse au cours de l'extraction à contre-courant en utilisant en tant que solvant un mélange comprenant une partie en volume d'alcool amylique, une partie en volume de benzène et une solution d'acide chlorhydrique 0,1 N. Le leucocyanidol ainsi recueilli est dissous dans l'acétone, puis précipité par l'éther éthylique.

Les procédés de séparation précités présentent les inconvénients suivants : - les leucocyanidines et les catéchines ont tendance à se décomposer aux Ph alcalins ou légèrement acides des milieux de séparation utilisés. De plus, les leucoanthocyanidols entrent facilement en réaction de condensation avec d'autres polyphénols et ils sont sujets également à l'autocondensation. Les conditions opératoires décrites dans les procédés précités n'évitent pas la réaction de polycondensation. Par ailleurs, la purification par chromatographie ainsi que l'extraction fractionnée basée sur le principe de la distribution à contre-courant sont des méthodes coûteuses et peu adaptées à la production industrielle.

Le but de la présente invention est de fournir un procédé de séparation de polyphénols ne présentant pas les inconvénients précités.

Suivant l'invention, le procédé de séparation de polyphénols tels que monomères ou oligomères de catéchines, de leucocyanidols et de leurs dérivés à partir d'un extrait végétal, est caractérisé en ce qu'on traite l'extrait végétal par de la bétaine base, en milieu alcoolique pour obtenir des bétainates de polyphénols et en ce qu'on sépare ces bétainates de polyphénols par précipitation fractionnée.

Le procédé selon l'invention présente de nombreux avantages par rapport aux techniques antérieures. Il ne fait pas appel en particulier aux techniques coûteuses de séparation chromatographique et d'extraction selon la distribution à contre-courant.

Les bétainates formés présentent une grande stabilité due à l'action stabilisante de la bétaine. En outre, la solubilité dans l'eau des bétainates de polyphénols est plus élevée que celle des polyphénols seuls, ce qui facilite la séparation et le conditionne-

ment des polyphénols sous forme de solutions aqueuses en vue de leur application industrielle ou pharmaceutique.

On a constaté d'autre part que les complexes qui se forment par réaction de la bétaine base sur les polyphénols présentent des solubilités différentes dans les solvants organiques, en fonction de la nature chimique du composé polyphénolique. Grâce aux différences de solubilités, on peut effectuer aisément la séparation des différents polyphénols, par précipitation fractionnée.

Selon une version avantageuse du procédé selon l'invention, l'extrait végétal est traité par une quantité de bétaine base correspondant sensiblement à la quantité stoechiométrique de polyphénols contenus dans l'extrait végétal.

De préférence, la quantité d'alcool ajoutée à l'extrait végétal est telle que la solution alcoolique contienne entre 2 et 10% en poids de polyphénols, cet alcool étant avantageusement un alcool aliphatique ayant entre 2 et 4 atomes de carbone tel que l'éthanol, l'isopropanol et le n- butanol.

Selon une version préférée du procédé selon l'invention, la séparation par précipitation fractionnée des différents bétainates de polyphénols est réalisée selon les étapes successives suivantes :

- Dans une première étape, on réalise la précipitation des bétainates les moins solubles dans l'alcool utilisé, c'est-à-dire les bétainates de tannins et les bétainates d'oligomères de catéchines en diluant la solution obtenue après addition de la bétaine base par 0,5 à 1,5 volume d'alcool aliphatique ayant 3 à 5 atomes de carbone et on sépare le précipité obtenu.

- Dans une seconde étape du procédé, le filtrat recueilli après séparation du précipité de bétainates de tannins et de bétainates de catéchines est de nouveau dilué par 2 à 3 volumes d'alcool aliphatique ayant 3 à 5 atomes de carbone afin de précipiter le bétainate du dimère de leucocyanidol.

- Dans une troisième étape du procédé, le filtrat recueilli après séparation du bétainate du dimère de leucocyanidol est dilué par 1 à 3 volumes d'alcool aliphatique ayant de 4 à 5 atomes de carbone pour précipiter le bétainate de leucoanthocyanidol.

5 - Dans une quatrième étape du procédé, on ajoute au filtrat obtenu à l'issue de la troisième étape, 0,5 à 4 volumes d'éther éthylique d'une cétone aliphatique ou d'un ester aliphatique ayant entre 3 et 5 atomes de carbone et on précipite ainsi le bétainate de catéchine.

Selon une variante du procédé selon l'invention, on peut réduire la quantité d'alcools utilisés pour la précipitation en procédant comme suit :

10 - Dans une première étape, le filtrat obtenu après séparation des bétainates de tannins et des oligomères de catéchines est évaporé sous vide et les bétainates de polyphénols monomères sont extraits du résidu d'évaporation au moyen d'un alcool ayant entre 2 et 3 atomes de carbone ou d'un mélange de ces alcools renfermant au moins 50% d'éthanol.

15 - Dans une seconde étape, on précipite le bétainate de leucoanthocyanidol en ajoutant 0,1 à 1 volume d'alcool aliphatique ayant 3 ou 4 atomes de carbone au filtrat obtenu après séparation des oligomères supérieurs à dimère de polyphénol.

20 - Dans une troisième étape, on précipite le bétainate de catéchine en ajoutant 0,1 à 1 volume d'ester aliphatique ayant de 3 à 5 atomes de carbone au filtrat obtenu après précipitation du bétainate de leucoanthocyanidol. Le bétainate de catéchine obtenu est cristallisé à partir de sa solution et il est identifié par son point de fusion compris entre 200 et 205°C et par sa raie d'absorption à 280 millimicrons.

25 Les différents bétainates de polyphénols peuvent être transformés en polyphénols purs selon les méthodes suivantes :

30 - On fait passer une solution aqueuse de bétainate de polyphénol sur une colonne échangeuse de cations appropriée et on recueille le polyphénol dans l'éluat. En variante, on peut hydrolyser la solution aqueuse de bétainate de polyphénol en chauffant à une température comprise entre 30 et 80°C pour faire précipiter le polyphénol pur.

35 A titre d'exemple non limitatif, on décrit ci-après un mode de réalisation du procédé selon l'invention appliqué à l'extrait de

pin maritime.

L'écorce de pin est tout d'abord traitée de façon connue (Voir TAYEAU et MASQUELLIER, Bull. Soc. Chim. 15, 1167, 1948) pour préparer un extrait riche en polyphénols.

5 L'écorce de pin maritime est dégraissée par l'éther éthylique ou par l'éther de pétrole. Selon cette méthode, on soumet ensuite l'écorce dégraissée à une extraction alcoolique pour en séparer la fraction riche en polyphénols et en flavonoïdes. L'extrait alcoolique est alors évaporé à sec et les flavonoïdes sont éliminés par
10 extraction au chloroforme, puis 30g de résidu sec provenant de cette extraction au chloroforme sont dissous dans 400ml d'éthanol.

On y ajoute ensuite conformément à l'invention, 15g de bétaine base dissoute dans un mélange comprenant 400ml d'éthanol et 20ml d'isopropanol. On laisse le mélange au repos pendant vingt quatre
15 heures, puis on essore le précipité obtenu. On obtient ainsi 20g de bétainates de tannins et d'oligomères de catéchines. Le filtrat recueilli est additionné de 600ml d'alcool isopropylique et le mélange est laissé au repos pendant vingt quatre heures. Le précipité filtré et essoré contient du bétainate de dimère de leucocyanidol
20 et une faible quantité de bétainates de tannins. Le filtrat est évaporé à sec puis traité par 300ml d'éthanol absolu pendant une heure à température ambiante. Le précipité est constitué de 6g de bétainate du dimère de leucocyanidol. En répétant l'évaporation à sec du filtrat et en traitant le résidu par 150ml d'éthanol on
25 obtient une quantité supplémentaire de 6g de bétainate du dimère de leucocyanidol. De nouveau on évapore à sec sous vide, le filtrat recueilli à l'issue de cette dernière opération et on dissout le résidu d'évaporation dans 50ml d'éthanol absolu. On ajoute à cette solution 50ml de n-butanol et on laisse le mélange au repos pendant
30 vingt quatre heures. Le précipité, séparé et essoré, est constitué par 3g de bétainate de leucocyanidol monomère. Le filtrat résultant est additionné de 10ml d'acétate d'éthyle et on recueille un précipité de bétainate de catéchine.

Pour transformer les différents précipités de bétainates de
35 polyphénols, en polyphénols purs on opère comme suit :

On dissout chacun des précipités dans de l'eau distillée et on fait passer la solution résultante dans une colonne échangeuse de cations capable de retenir les cations bétaine. On récupère les polyphénols dans l'éluat.

- 5 On peut également chauffer la solution aqueuse de polyphénols à une température comprise entre 30 et 80°C de façon à hydrolyser les bétainates de polyphénols et précipiter les polyphénols purs.

Les polyphénols ainsi obtenus peuvent être utilisés de façon connue, par exemple comme antioxydants dans les produits alimentaires
10 ou comme médicaments.

REVENDICATIONS

1. Procédé de séparation de polyphénols tels que monomères ou oligomères de catéchines, de leucocyanidines ou de leurs dérivés à partir d'un extrait végétal riche en polyphénols, caractérisé en ce qu'on traite l'extrait végétal par de la bétaine base en milieu alcoolique pour obtenir des bétainates de polyphénols et en ce qu'on sépare ces bétainates de polyphénols par précipitation fractionnée.
2. Procédé de séparation selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'extrait végétal est traité par une quantité de bétaine base correspondant sensiblement à la quantité stoechiométrique de polyphénols.
3. Procédé de séparation selon les revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que la quantité d'alcool ajouté à l'extrait végétal est telle que la solution alcoolique contienne entre 2 et 10% en poids de polyphénols.
4. Procédé de séparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'on utilise un alcool aliphatique ayant entre 2 et 4 atomes de carbone ou un mélange de ces alcools.
5. Procédé de séparation selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'on précipite les bétainates de tannins et d'oligomères de catéchines en diluant la solution alcoolique de bétainates de polyphénols par 0,5 à 1,5 volume d'alcool aliphatique ayant de 3 à 5 atomes de carbone.
6. Procédé de séparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'on précipite le bétainate du dimère de leucocyanidol en diluant le filtrat obtenu après séparation des bétainates de tannins et d'oligomères de catéchines par 2 à 3 volumes d'alcool aliphatique ayant entre 3 et 5 atomes de carbone.
7. Procédé de séparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'on précipite le bétainate de leucocyanidol en diluant le filtrat obtenu après séparation du dimère de leucocyanidol par 1 à 3 volumes d'alcool aliphatique ayant entre 3 et 5 atomes de carbone.

5 8. Procédé de séparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'on précipite le bétainate de catéchine en ajoutant au filtrat obtenu après séparation du bétainate de leucocyanidol 0,5 à 4 volumes d'éther éthylique, d'ester ou de cétone aliphatique ayant 4 ou 5 atomes de carbone.

10 9. Procédé de séparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le filtrat obtenu après séparation des bétainates de tannins et des oligomères de catéchines est évaporé sous vide et les bétainates de polyphénols monomères sont extraits du résidu d'évaporation au moyen d'un alcool ayant 2 ou 3 atomes de carbone ou d'un mélange de ces alcools renfermant au moins 50% d'éthanol.

15 10. Procédé de séparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'on précipite le bétainate de leucoanthocyanidol en ajoutant 0,1 à 1 volume d'alcool aliphatique ayant 3 ou 4 atomes de carbone au filtrat obtenu après séparation des oligomères supérieurs à dimère de polyphénol.

20 11. Procédé de séparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisé en ce qu'on précipite le bétainate de catéchine en ajoutant 0,1 à 1 volume d'éther éthylique, d'ester ou de cétone aliphatique ayant de 3 à 5 atomes de carbone au filtrat obtenu après séparation du bétainate de leucoanthocyanidol.

25 12. Procédé de séparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce qu'on transforme les bétainates de polyphénols en polyphénols purs, en faisant passer les solutions aqueuses de bétainates dans une colonne échangeuse de cations.

30 13. Procédé de séparation selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce qu'on transforme les bétainates de polyphénols en polyphénols purs en chauffant les solutions aqueuses de bétainates à une température comprise entre 30 et 80°C pour précipiter les polyphénols.